

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21067

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌における抗腫瘍ウイルスを用いた新規治療開発に関する研究

研究課題名(英文) Research on the development of new treatment using anti-tumor viruses in oral squamous cell carcinoma

研究代表者

郷原 俊輔 (Gohara, Shunsuke)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：90964768

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌(OSCC)に対する抗腫瘍ウイルス(OBP-301)併用放射線療法に関する研究を行った。in vitroではOBP-301の感染・増殖に必須のタンパク質の発現解析を行った。次に、OBP-301の放射線併用療法での相乗効果を口腔がん細胞株(放射線耐性株を含む)を用いて示し、分子メカニズムの解析を行った。

in vivoでは、口腔がん細胞の異種移植マウスモデル、及び口腔がん患者由来のPDXモデルを用いてOBP-301併用放射線療法の有効性を示した。

上記内容を論文にまとめ、Molecular Therapy Oncolyticsに投稿し、2022年10月にアクセプト、12月に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗腫瘍ウイルス(OBP-301)併用放射線療法は既に食道がん等の他領域では臨床試験が開始されており、一定の治療効果が確認されている。本研究では口腔がんにおける同療法の効果を細胞レベルから生体レベルまで確認し、海外論文に掲載された。この研究の成果は、同療法が食道がん等と同様に口腔がん患者にも十分に適応し得るものであることを示している。即ち、臨床試験へ向けた足がかりとなる研究であり、同療法が従来治療適応外であった超高齢者患者や全身的既往を有する患者の治療選択肢となり得ることを示唆した。我々は本研究が口腔がん研究、新規治療開発において十分に意義のあるものであったと確信している。

研究成果の概要(英文)：We conducted a study on anti-tumor virus (OBP-301) combination radiation therapy for oral squamous cell carcinoma (OSCC). in vitro, we analyzed the expression of proteins essential for infection and proliferation of OBP-301. Next, the synergistic effects of OBP-301 in combination radiation therapy were demonstrated using oral cancer cell lines (including radioresistant lines), and the molecular mechanisms were analyzed.

In vivo, we demonstrated the efficacy of OBP-301 combined radiation therapy using a xenograft mouse model of oral cancer cells and a PDX model derived from oral cancer patients.

The above information was summarized in a paper and submitted to Molecular Therapy Oncolytics, which was accepted in October 2022 and published in December 2022.

研究分野：外科系歯学

キーワード：口腔がん 抗腫瘍ウイルス 放射線治療

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平上皮癌 (OSCC) の生存率の低下は、化学療法や放射線療法に対する抵抗性、異常増殖、浸潤・転移といった悪性形質の存在が主な原因となっている (Hanahan & Weinberg, Cell 2011)。OSCC の標準治療は、拡大切除とリスクに応じた術後化学放射線療法 (CRT) であるが、超高齢社会にある本邦では、全体的背景を理由に標準治療適応外となる症例が少なくない。その場合、患者の多くは放射線単独療法を受けていることが多いが、治療成績は極めて不良である。この背景には、放射線抵抗性 OSCC の存在が示唆される。したがって、**放射線抵抗性を克服し、OSCC 患者に新たな治療選択肢を提供するためのアプローチが超高齢社会の本邦において急務となっている。**

抗腫瘍ウイルス・OBP-301 (一般名: Suratadenoturev) は、Fujiwara らによって開発されたテロメラーゼの存在下で特異的に増殖する腫瘍溶解性アデノウイルスである (Kawashima et al. Clin. Cancer Res 2004)。hTERT 依存的に複製し、腫瘍細胞に細胞死をもたらす (図 1A)。一方で、正常な体細胞ではほとんど複製しない (Hashimoto et al. Cancer Sci 2008)。基礎研究では、多くの悪性腫瘍において OBP-301 の抗腫瘍効果が実証され (Kawashima et al. Clin. Cancer Res. 2004, Tanimoto et al. Mol. Ther. Oncol. 2020) 臨床研究においては食道癌を中心に既存治療との併用による良好な抗腫瘍効果が報告されている (Shirakawa et al. Eur. J. Cancer. 2021)。しかし、**OSCC において hTERT の臨床的意義や hTERT を標的分子とする OBP-301 の有用性を検討した報告はない。また、OBP-301 による放射線感受性増感に関する分子機構の解明も十分になされていない。**

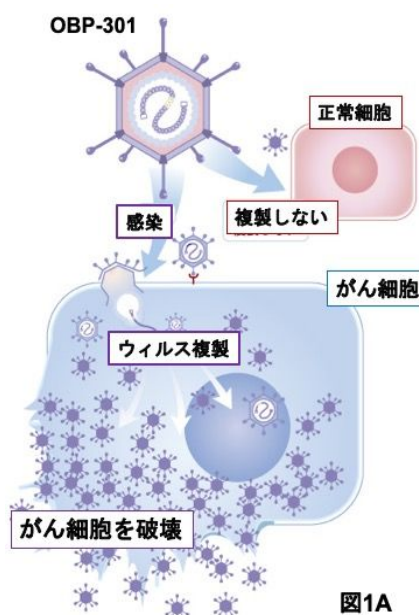


図1A

2. 研究の目的

上述のような学術的背景と問いを出発点として、本研究では、放射線抵抗性 OSCC に対する新たな革新的治療戦略の開発を目指し、**腫瘍溶解ウイルス併用放射線療法という新たな診断・治療法の開発とその分子基盤の解明を行う。**現在、**”抗腫瘍ウイルス”に着目して放射線抵抗性 OSCC の克服を目指した研究はほとんどなく、独自性に富んだものである。**また、申請者はこれまで OSCC の放射線抵抗性に関わる研究を精力的に行ってきた (Matsuoka et al. Br J Cancer 2016, Yamana et al. JEV 2021)。したがって、**本研究は申請者のこれまでの研究成果や研究過程で得られた多くの研究資源を応用可能な課題である。**また、上述のような独自性から、**研究成果は既存治療では限界を迎えつつある超高齢社会における口腔がん治療ひいては他癌腫の治療戦略に大きなパラダイムシフトをもたらし得ると考えられる。**

OBP-301 は日本に本拠地を置くオンコリスバイオファーマ株式会社で開発・製造されたものである。そういった背景から、OBP-301 と既存治療法との併用療法の有用性は、その多くが本邦から報告されている (Kikuchi et al. Mol Ther 2020, Osaki et al. Sci Rep 2016)。しかし、OSCC を含む頭頸部癌において放射線療法と OBP-301 の併用療法の有用性について検討を行った研究は、基礎研究に関する 1 報のみである (Takahashi et al. Head Neck 2014)。また、海外で

は OBP-301 単剤投与での臨床試験（台湾・韓国：肝臓がん）抗 PD-1 抗体併用での医師主導治験（米国：胃・胃食道接合部がん）国内では食道がんを対象とした OBP-301 と放射線併用に関する臨床試験が進められており、OSCC においても社会実装を目指したトランスレーショナルリサーチを進めていくことが求められている。

本研究は、放射線耐性 OSCC 細胞株 Xenograft モデルや口腔がん患者から樹立した PDX モデルにおける治療実験に主眼を置いており、他領域に比べて実臨床への実装が立ち遅れている“口腔がんにおける抗腫瘍ウイルス治療”の実現を推し進めるプロジェクトであると言える。

3. 研究の方法

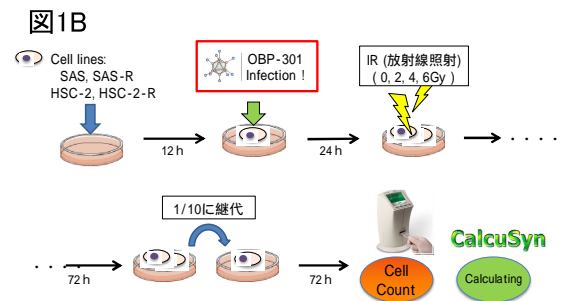
本研究では、以下の4つの研究課題に取り組む。

OSCC 患者検体における hTERT の臨床病理学的意義の検討

臨床サンプルは当科で化学放射線療法を試行した進行 OSCC 患者 50 名の治療前生検標本を使用する。ヒト OSCC 組織における hTERT の発現を確認し、hTERT と OSCC の生物学的特徴の関係性を探索するとともに臨床病理学的検討を行う。これにより、OBP-301 の適応となる OSCC 患者が存在するかを明らかにする。

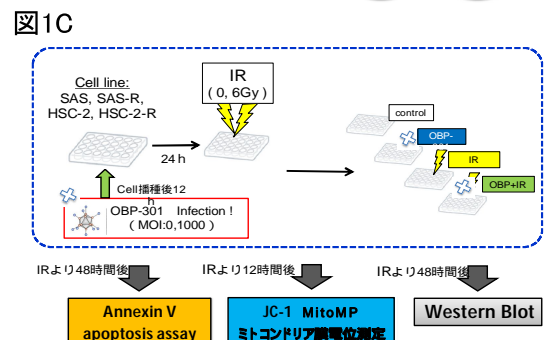
OBP-301 による放射線増感効果の検討

ウイルスを OSCC 細胞株、CRR 細胞株各 2 種ずつへ感染させた後、放射線照射を行い、放射線照射に対する、OBP-301 の増感効果を評価する。また、解析ソフトを用い、放射線治療との相乗効果を定量化して評価する（図 1B）。



放射線増感効果における分子機構の解明

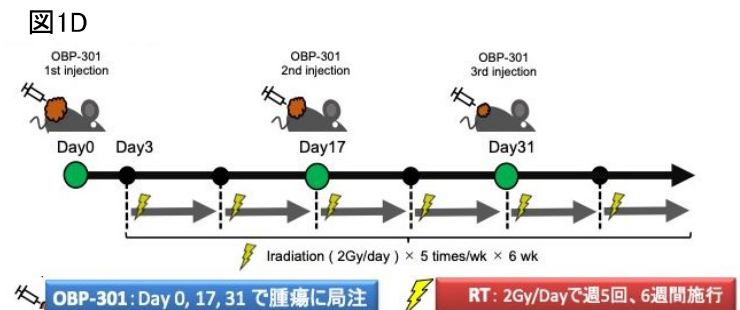
実験結果を参考に、ウイルス濃度、放射線照射量、タイムコースを設定し、コントロール、OBP-301 単剤投与、放射線単剤照射、OBP-301 併用放射線照射の各条件において、放射線耐性及び細胞死に関わる分子を遺伝子・タンパク質レベルの両面で網羅的に解析し、放射線増感効果における分子機構を明らかにする（図 1C）。



前臨床マウスモデルによる OBP-301 併用放射線療法

の有効性の検討

前臨床マウスモデルは OSCC 細胞株および OSCC 由来 CRR 細胞株を用いた細胞株由来異種移植 (CDX) モデル、及び OSCC 患者から樹立した PDX モデルを用いて検証する。タイムコースは、食道がんにおける臨床試験のスケジュールを参考に（図 1D）、定期的に腫瘍のサイズを計測し、縮小率を評価すると共に放射線耐性 OSCC の制御に同療法が有効であるかも確認する。また、治療終了後の腫瘍サンプルを採取し、in vitro で得られた結果が前臨床モデルにおいても再現できるかを確認する。



4. 研究成果

in vitro では OBP-301 の感染・増殖に必須のタンパク質 hTERT、CAR の発現を口腔がん細胞株 12

種、ヒト口腔正常粘膜 1 株で確認した。次に、OBP-301 の放射線併用療法での相乗効果を口腔がん細胞株（放射線耐性株を含む）各 2 種ずつを用いて示し、分子メカニズムの解析を行った。その結果、STAT3-BclxL 経路が放射線増感効果に関与している可能性が示された。in vivo では、口腔がん細胞の異種移植マウスモデル、及び当科で加療した口腔がん患者由来の PDX モデルを用いて生体内での OBP-301 併用放射線療法の有効性を確認した。上記内容を論文にまとめ、Molecular Therapy Oncolytics に投稿し、2022 年 10 月にアクセプト、12 月に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shunsuke G, Kosuke S, Ryoji Y, Ryusho K, Hiroshi T, Masashi H, Junki I, Ryuta K, Hikaru N, Hidetaka A, Sho K, Keisuke Y, Yuka N, Asuka I, Junki S, Yuichiro M, Hisashi T, Masatoshi H, Kenta K, Masashi N, Akiyuki H, Yoshikazu K, Manabu F, Seiji O, Yasuo U, Toshiyoshi F, Hideki N	4. 巻 27
2. 論文標題 An oncolytic virus as a promising candidate for the treatment of radioresistant oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Oncolytics	6. 最初と最後の頁 141 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omto.2022.10.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------